

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO

Área: Reprodução, Clínica Médica e Cirúrgica de Bovinos

Aluno: Edeson Ricardo Andreiv

Orientadores: Jairo Frare e Fernando Bracht

Supervisor: Profº. Drº. Alexandre Leseur dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das
exigências para a conclusão do
Curso de Graduação em Medicina
Veterinária da Universidade Federal
do Paraná.

PALOTINA – PR
Novembro de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO MEDICINA VETERINÁRIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO

Área: Reprodução, Clínica Médica e Cirúrgica de Bovinos

Aluno: Edeson Ricardo Andreiv

Orientadores: Jairo Frare e Fernando Bracht

Supervisor: Profº. Drº. Alexandre Leseur dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das
exigências para a conclusão do
Curso de Graduação em Medicina
Veterinária da Universidade Federal
do Paraná.

PALOTINA – PR
Novembro de 2013



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ – CAMPUS PALOTINA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
COMISSÃO ORIENTADORA DE ESTÁGIOS

APRESENTAÇÃO DE RELATÓRIO DE TRABALHO DE CONCLUSÃO
DE CURSO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

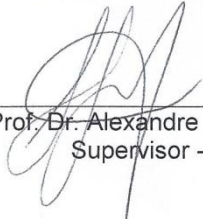
ÁREA – REPRODUÇÃO, CLÍNICA E CIRÚRGICA DE BOVINOS

Autor: Edeson Ricardo Andrei


Supervisor: Alexandre Leseur dos Santos

Titulação: Médico Veterinário

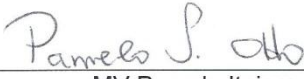
APROVADO em 12 de Dezembro de 2013



Prof. Dr. Alexandre Leseur dos Santos
Supervisor - Orientador



Prof. Dr. Roberto Rochadelli



MV Pamela Itajara Otto

"Chegará o dia em que o homem conhecerá o íntimo dos animais. Nesse dia um crime contra um animal será considerado um crime contra a própria humanidade."

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, e por ter me concedido a oportunidade de realizar esse grande sonho que sempre tive desde de pequeno que era ser Médico Veterinário.

Aos meus pais José Carlos e Lia Mara Andreiv por todo apoio, incentivo, amor e dedicação que tiveram por mim, não medindo esforços para que esse sonho se torna-se realidade.

À minha namorada Lediane Negoceki , por sempre me apoiar, ajudar e ser companheira nas horas boas e principalmente nas difíceis que tive durante a graduação.

Aos meus irmãos Eduardo, Izadora e Pedro por todo incentivo e carinho.

Agradeço ao Profº. Drº. Alexandre Leseur dos Santos, por ter aceito me supervisionar nesta etapa tão importante da graduação.

Agradeço aos meus orientadores de estágio Jairo Frare e Fernando Bracht por todo aprendizado técnico e prático adquirido durante esse período de estágio.

Agradeço a todos os colegas da Santa Clara Genética e da B&M Consultoria pelas trocas de experiências e pelo companheirismo.

Agradeço meus companheiros da Republica Tcheca, Vinicius, Bruno e Carlos e também meus grandes amigos da Republica Bartira, Alexandre, Thiago, Caio e Rogério.

Enfim, a todos, que direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma durante minha formação. Dedico a estas pessoas minha eterna gratidão.

RESUMO

O presente trabalho apresenta as atividades desenvolvidas durante o período de estágio obrigatório supervisionado, realizado em duas empresas, iniciando na Santa Clara Genética de 05 de agosto a 11 de outubro de 2013. Desenvolvendo atividades na área de reprodução animal, dentro e fora do país, entre as atividades contempladas destacam-se produção de embriões *in vitro*, exames de brucelose e tuberculose, sincronização de cios para IATF, inseminação artificial, descornas, exames andrológicos e coleta de sêmen. Na empresa B&M Consultoria Agropecuária no período de 14 de outubro a 22 de novembro de 2013, com o acompanhamento a campo nas visitas realizadas por médicos veterinários. As mesmas eram agendadas e programadas. As consultas foram realizadas em diferentes épocas e com profissionais diferentes, seguindo a programação mensal da empresa. O trabalho compreendeu as seguintes atividades: avaliação ginecológica de bovinos leiteiros, diagnóstico de gestação, avaliação e controle da qualidade do leite através de coletas e envio de amostra para análise, acompanhamento de ordenha, casos clínicos de mastite e “freemartin” (condição de nascimento de gêmeos de sexo diferentes, em que a fêmea tem 90% de chances de ser estéril).

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	9
2- DESCRIÇÃO GERAL DOS LOCAIS ESTÁGIO.....	11
2.1 – SANTA CLARA GENÉTICA.....	11
2.2 – B&M CONSULTORIA	11
3- ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	12
3.1 – EXAMES DE BRUCELOSE	12
3.2 – EXAMES DE TUBERCULOSE	16
3.3 – DESCORNA CIRÚRGICA.....	17
3.4 – EXAME ANDROLÓGICO.....	18
3.5 - PROTOCOLO DE IATF E INSEMINAÇÃO.....	20
3.6– PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM BOVINOS DE LEITE	21
3.7 – SELEÇÃO DE RECEPTORAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES..	22
3.8 – ASPIRAÇÃO FOLICULAR (OPU), FECUNDAÇÃO “IN VITRO” (FIV) E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES (TE)	23
3.9 - COLETA DE SÊMEN.....	31
3.10 - MASTITE	32
3.11 – FREEMARTIN.....	34
3.12 – DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO EM BOVINOS.....	37
3.13 – EXAME GINECOLÓGICO EM FÊMEAS BOVINAS.....	41
3.13.1 – Catarro Genital de Grau I e Grau II	42
3.13.2 – Catarro Genital Grau III e Grau IV	43
3.13.3 - Metrite	44
3.13.4 – Cistos Ovarianos	45
4- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-	Placa comparando as amostras sorológicas de um animal soropositivo (à esquerda) e um animal soronegativo (à direita).....	14
FIGURA 2-	Mesa de “OPU” com seus equipamentos.....	24
FIGURA 3-	Imagem de oócitos, quando chegaram ao laboratório após aspiração e seleção.....	25
FIGURA 4-	Caixa com amostras de leite coletadas para análise laboratorial, numeradas de acordo com as respectivas vacas.....	34
FIGURA 5-	Durante a gestação de gêmeos, a membrana placentária é compartilhada entre os fetos, havendo com isso um elo entre os fetos e a placenta.....	36
FIGURA 6-	Formação hiperplásica na vagina de bezerra freemartin.....	37
FIGURA 7-	Imagem ultrassonográfica após 30 dias da IA, a seta indica o embrião.....	40
FIGURA 8-	Vaca com corrimento vaginal sanguinolento em decorrência da metrite.....	45
FIGURA 9-	Cisto Ovariano em Fêmea Bovina, a seta indica o cisto.....	47

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Número absoluto e porcentagem dos casos acompanhados no período de 05/08/2013 à 22/11/2013 durante o estágio curricular supervisionado obrigatório realizado na Santa Clara Genética e na B&M Consultoria Agropecuária..... 12
- TABELA 2 - Confirmação de prenhez com o uso de aparelho de ultrassonografia durante estágio na B&M Consultoria Agropecuária, durante o período de 14 de outubro à 22 de novembro de 2013, com números absolutos e porcentagens.....38

1- INTRODUÇÃO

Com aproximadamente 209 milhões de bovinos, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil tem o maior rebanho comercial do mundo. Cerca de 80% do rebanho é composto por animais de raças zebuínas (*Bos indicus*), que são animais de comprovada rusticidade e adaptação ao ambiente Brasileiro. Dentre estas raças, podemos destacar o Nelore, com 90% desta parcela (ABIEC, 2013).

Uma ferramenta cada vez mais utilizada pelos criadores brasileiros, e que vem gerando ótimos resultados é o cruzamento entre raças, ou cruzamento industrial, entre animais zebuínos e europeus, com o objetivo de se usufruir do ganho de heterose, que é o ganho genético decorrente de combinação de características extremas entre as raças, além da complementaridade das características.

Segundo o boletim técnico do Conselho Federal De Medicina Veterinária, o CFMV, na área da reprodução assistida, após trinta anos do início das pesquisas, o Brasil pode comemorar não só o sucesso no desenvolvimento e domínio das técnicas usadas na reprodução animal, mas a conquista do espaço definitivo desse mercado.

O Brasil é hoje, referência na produção de genética em laboratório. A tecnologia da fecundação *in vitro* (FIV) vem melhorando seus índices e conta com técnicas para atender às necessidades do pecuarista moderno. A escolha cada vez mais acertada entre macho e fêmea, por meio da sexagem de sêmen, incentiva empresas a se modernizar constantemente, para atender às exigências dos criadores (INTERURAL, 2012). No quesito de tecnologia nos últimos cinco anos, a produção nacional saltou de 60.000 para aproximadamente 200.000 embriões transferidos/ano, sendo que mais de 90% foram produzidos em laboratório (ALVIN, 2012).

O efeito desse resultado é extremamente positivo para o melhoramento genético do gado, porém deve ser executado por profissionais gabaritados para tal e em condições propícias.

Já em relação à pecuária leiteira o Brasil é um dos maiores produtores de leite bovino do mundo (dados Embrapa gado de leite), e cresce a cada ano numa taxa bem maior que os demais países que estão em sua frente. Este é um dos

produtos mais importantes da agropecuária brasileira, pois a partir desta matéria prima obtemos inúmeros derivados que obtêm preços elevados.

A atividade leiteira está presente em todos os 399 municípios paranaenses e representa grande importância econômica e social. O Estado é tradicionalmente um grande produtor de leite. O gosto pela bovinocultura de leite veio como herança da população européia que se firmou no estado, consolidado pela estrutura fundiária, onde a prevalência de pequenas propriedades é marcante. Estudos apontam para a existência de mais de 100 mil produtores de leite, entre pequenos, médios e grandes, que encontram no leite o principal empreendimento capaz de gerar renda mensal e cumpre o objetivo de saldar, pelo menos, as despesas domésticas que também têm vencimentos mensais (VOLPI e DIGIOVANE, 2008).

Um dos grandes entraves encontrados pelos produtores é o conhecimento técnico da produção, pois alguns ainda trabalham no mesmo sistema de seus pais ou avós, por isso há necessidade de gerenciamento destes, com conhecimento técnico e implementação de sistemas onde se obtém uma maior produtividade.

O presente relatório teve como objetivo relatar todo procedimento realizado no estágio supervisionado em visitas à propriedades para realização de consultas em clínica animal e controle zootécnico de rebanhos de bovinos.

2- DESCRIÇÃO GERAL DOS LOCAIS ESTÁGIO

2.1 – Santa Clara Genética

A Santa Clara Genética, atua a mais de 27 anos na área de reprodução animal, está localizada na Av. Brasil, 7640 – Cascavel – Pr. Seus principais focos de atuação são aspiração folicular, fecundação *in vitro* – FIV, tecnologia de transferência de embriões, ginecologia, andrologia, congelamento de embriões (vitrificação), programas para inseminação artificial em tempo fixo – IATF e ultrassonografia (diagnostico e sexagem fetal). A empresa trabalha em parceria com o condominio Brahman Chaco, onde são realizados serviços de hospedagem de animais, barriga de aluguel para transferência de embriões e venda de receptoras.

2.2 – B&M Consultoria

A B&M Consultoria Agropecuária está localiza na Rua Presidente Kennedy, 839 – centro – Cascavel – Pr, criada em 2006 iniciando suas atividades com quatro propriedades e um laticínio de médio porte, atualmente atente mais de 128 propriedades e duas grandes industrias de lácteos. A equipe é composta por sete médicos veterinários, um engenheiro agrônomo, uma engenheira agrícola e três pessoas no processamento de dados. As principais atividades desenvolvidas pela empresa são: consultoria, cirurgias, clinica médica, reprodução, gestão de propriedades leiteiras, nutrição, projetos de instalações e projetos para financiamento.

3- Atividades Desenvolvidas

A rotina do presente estágio foi norteada pelo cronograma de atividades agendadas de cada empresa, geralmente com início às 7h30min e término às 18h00min, com exceções ocorridas pela distância até a propriedade atendida, devido ao tempo para deslocamento.

O período de estágio caracterizou-se pelo acompanhamento dos médicos veterinários, auxiliando e realizando as atividades que surgiam na rotina diária, e as que eram agendadas anteriormente como descrito na Tabela 1, além de preparar e organizar o material que seria utilizado na prática do dia seguinte.

Tabela 1-Número absoluto e porcentagem dos casos acompanhados no período de 05/08/2013 à 22/11/2013.

ATIVIDADE	Nº De Casos	%
Exame de Brucelose	1232	19.91
Exame de Tuberculose	47	0.760
Descorna Cirúrgica	2	0.032
Exame Andrológico	62	1.002
Protocolo de IATF e IA	798	12.89
Seleção de Receptoras para TE	397	6.416
Produção de Embriões <i>In Vitro</i>	932	15.06
Coleta de Sêmen	2	0.032
Exame Ginecológico	1412	22.82
Diagnóstico de Gestação	1290	20.85
Casos de Mastite	8	0.129
Casos de Freemartin	5	0.080
TOTAL	6187	100

3.1 – Exames de Brucelose

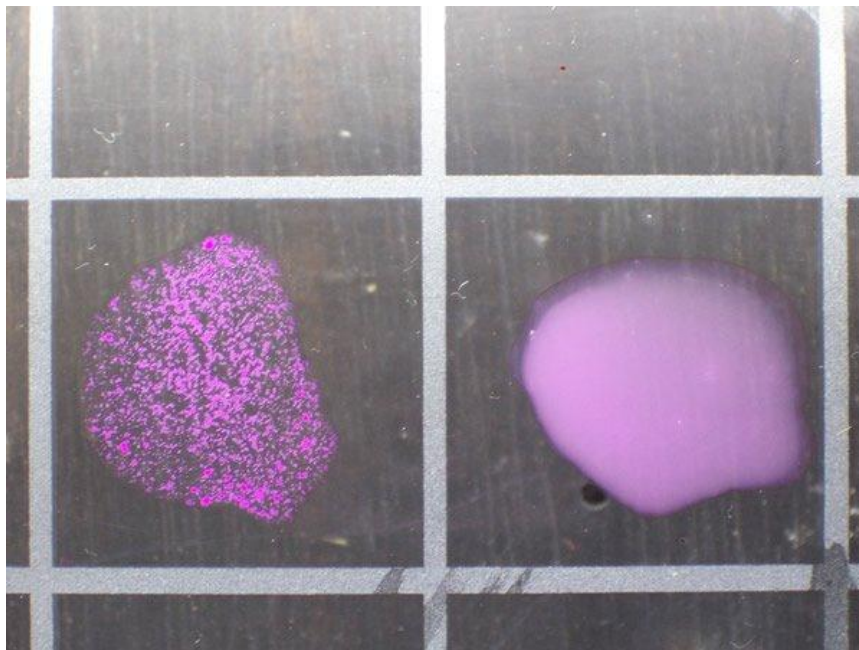
Um dos maiores números de casos executados, como pode ser observado se refere a exames de brucelose, onde do total de exames realizados a maior porcentagem foi na Fazenda Nova Esperanza, localizada no Departamento Alto

Paraná, Cidade Campo 9 – Paraguai, fazenda de bovinos de corte, onde foi realizado os exames com o objetivo de descartar os animais positivos, evitando assim a possível infecção de outros animais e evitar casos de abortamento na fazenda. Os animais eram divididos em lotes, sendo estes com número variado, todos os bovinos eram identificados com numeração feita a ferro quente.

Todas as fêmeas em reprodução e reservadas para reprodução foram submetidas à coleta, sendo coletado sangue da artéria coccígea, através de uma agulha 40x12 mm e uma seringa de 10 mL. A amostra era armazenada em tubos de vidro e conservados sob refrigeração em uma caixa de isopor com gelo, ao final de cada período de trabalho o material coletado era armazenado na geladeira e ficava nesta até o período noturno onde era realizado os exames. O sangue sofria naturalmente o dessoramento e em alguns casos era centrifugado, o exame era realizado através da prova do antígeno acidificado tamponado (ATT), onde era adicionado 60 microlitros de soro sanguíneo na placa de vidro e 60 microlitros do ATT, após realizar a mistura do antigo e do soro se aguardava cerca de três minutos e era procedida a leitura.

As amostras que apresentavam grumos eram classificadas como positivas e as que permaneciam sem alteração eram consideradas negativas (Figura 1), após a realização de todos os exames observou-se 101 animais soro positivos, os mesmos foram destinados ao descarte. Segundo o Serviço Nacional de Calidad y Salud Animal – SENACSA, que é o órgão Paraguai competente responsável por preservar a saúde pública e animal criado pela Lei 99/91, os animais positivos devem ser descartados.

Figura 1: Placa comparando as amostras sorológicas de um animal soropositivo (à esquerda) e um animal soronegativo (à direita).



Fonte: www.brunobangel.com.br

Para os exames de brucelose realizados no Brasil, os mesmos não apresentaram reação de aglutinação, não encontrando animais soro positivos, assim emite-se um laudo, que é entregue ao produtor e também à Agência de Defesa Agropecuária do Paraná – ADAPAR, órgão competente no Estado.

A Brucelose é uma doença infectocontagiosa provocada por bactérias do gênero *Brucella*. Caracteriza-se como uma zoonose de distribuição universal, causadora de problemas sanitários e prejuízos econômicos de grande importância.

Estudos mostram que a brucelose bovina parece estar disseminada por todo o território brasileiro, com maior ou menor prevalência dependendo da região estudada. Em 1975, foram verificadas as seguintes prevalências em animais, por regiões: Sul, 4%; Sudeste, 7,5%; Centro-Oeste, 6,8%; Nordeste, 2,5% e Norte, 4,1%. (PNCEBT, 2006). A *Brucella abortus* é o principal biovar que acomete bovídeos e bubalinos. As infecções tendem a se localizar no sistema retículo endotelial e no trato genital, gerando perdas diretas devido principalmente, por abortos, baixos índices reprodutivos, aumento do intervalo entre partos, diminuição da produção de leite, morte de bezerros e interrupção de linhagens genéticas. Os

sinais clínicos mais comuns são placentite nas fêmeas, epididimite e orquite em machos.

A transmissão entre os animais ocorre por contato com líquidos placentários, fetos, fluidos fetais e descargas vaginais de animais infectados. Após o primeiro aborto, as fêmeas são assintomáticas, apesar disso continuam eliminando a *Brucella* no leite e descargas uterinas durante os partos subsequentes, quando poderão abortar ou não. Os machos podem transmitir a *Brucella* de forma venérea, pois podem ser encontradas e eliminadas no sêmen por longos períodos (Manual de Zoonoses, 2010).

O homem pode se contaminar através do contato direto com restos de abortamento e também pela ingestão de produtos alimentícios contaminados, geralmente os lácteos como leite cru, queijos, manteigas, iogurtes e sorvetes. O médico veterinário é considerado um profissional de risco por estar em contato direto com animais que podem ou não estar contaminados com a *Brucella abortus*.

De acordo com o Programa Nacional de Controle de Brucelose e Erradicação de Brucelose e Tuberculose, são aceitos como testes sorológicos oficiais para diagnóstico, o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) e o Teste do Anel do Leite (TAL). Os soros com resultado positivo no AAT, devem ser submetidos aos testes confirmatórios do 2-Mercaptoetanol (2ME) e/ou Fixação do Complemento (FC).

O controle da brucelose baseia-se em ações de vacinação massal de fêmeas, diagnóstico e sacrifício dos animais positivos. As vacinas utilizadas no Brasil são a B19 e a RB51. A B19 é utilizada em fêmeas jovens com idade entre três e oito meses, porém quando utilizada de forma não recomendada, ou seja, em machos e fêmeas com idade superior à recomendação pode causar graves problemas como orquite nos machos e provocar aborto se administrada durante a gestação nas fêmeas. Pode ainda infectar o homem, e dar origem à doença. Portanto, não se recomenda a vacinação de machos ou fêmeas gestantes com a amostra B19. Já a RB51 é destinada para fêmeas com idade superior a oito meses e também fêmeas adultas, é contra-indicada para fêmeas com idade inferior a oito meses, fêmeas gestantes e machos de qualquer idade (BRASIL, 2006).

Assim, os métodos de controle da brucelose são bastante simples. O mais importante é conhecer a epidemiologia da doença, a população em que as ações

deverão ser desenvolvidas, e escolher a melhor estratégia para implementá-las (PNCEBT- Manual Técnico, 2006).

3.2 – Exames de Tuberculose

Foram realizados exames para diagnóstico de tuberculose em bovinos, através do teste de prega caudal, onde era administrado 0,1 mL de tuberculina bovina, e após 72 horas era observado se havia reação de sensibilização alérgica. Em todos os animais o resultado do teste foram negativos, não havendo necessidade de descarte dos mesmos.

A tuberculose bovina é uma enfermidade infectocontagiosa de caráter crônico causada pelo *Mycobacterium bovis*, e está disseminada por todo o território nacional, sabe-se que a maior incidência desta doença está relacionada com produtores de leite, embora esta doença acometa tanto bovinos de corte como de leite. Caracterizando-se pelo desenvolvimento progressivo de lesões nodulares, chamadas de tubérculos, que podem estar localizadas em qualquer órgão ou tecido. (Manual de Zoonoses, 2010). No passado, a infecção era bastante comum em muitos países. No entanto após a implantação do teste de tuberculina, pasteurização do leite e inspeção adequada de carnes, hoje em dia é uma doença pouco comum (ANDREWS, 2008).

A mais significativa fonte de infecção para os rebanhos é o bovino ou o bubalino infectado. A principal forma de introdução da tuberculose em um rebanho é a aquisição de animais infectados. A principal porta de entrada do *M. bovis* é a via respiratória, a transmissão em aproximadamente 90% dos casos ocorre pela inalação de aerossóis contaminados com o microorganismo. O trato digestivo também é porta de entrada da tuberculose bovina, principalmente em bezerros alimentados com leite proveniente de vacas com mastite tuberculosa e em animais que ingerem água ou forragens contaminadas (PNCEBT- Manual Técnico, 2006).

As manifestações respiratórias apesar de raras, caracterizam-se por tosse crônica, suave e úmida, sendo estimuladas quando comprimida a região da faringe ou durante a realização de exercícios. Também podem estar presentes corrimento nasal seroso ou purulento, dispnéia, taquipnéia e hipertermia (MELDAU, 2013).

A tuberculose bovina pode ser diagnóstica de duas formas, a direta e a indireta. Os diretos baseiam-se na identificação do agente etiológico no material

biológico, já os indiretos avaliam a resposta imunológica dos hospedeiros em relação ao agente, que pode ser humoral ou celular.

A Tuberculina PPD (Derivado Proteico Purificado) Bovina, é utilizada para diagnóstico indireto da tuberculose, pelo teste alérgico de tuberculinização. A tuberculina deve ser aplicada na região escapular, cervical ou prega caudal, através da via intra-dérmica na dosagem de 0,1ml.

O teste da prega caudal pode ser utilizado como rotina exclusivamente em criações de bovinos de corte. O teste cervical simples é o teste de rotina recomendado para rebanhos leiteiros, já o teste cervical comparativo é o teste confirmatório, utilizado em animais reagentes aos testes de rotina, são inoculadas as tuberculinas PPD bovina e aviária.

Após 72 horas (+ou- 6hrs) da inoculação os animais são avaliados, e aqueles classificados como positivos, devem ser descartados, porém se for o primeiro teste o produtor tem direito de pedir reteste se achar necessário. Cabe ao Médico Veterinário comunicar o órgão competente no caso de animais positivos, sendo esta medida é de caráter obrigatório.

3.3 – Descorna Cirúrgica

Foi acompanhado durante o estágio a descorna cirúrgica de dois animais, sendo uma fêmea de um ano e quatro meses da raça jersey, e um macho de aproximadamente dois anos da raça simental. Foi administrado xilazina 2% para sedar os animais, e posteriormente era realizada a anestesia local com cloridrato de lidocaína á 2%. Era feita a contenção dos animais após a ação do fármaco sedativo, posteriormente era realizado a tricotomia, limpeza e desinfecção do local cirúrgico com iodo povidine 10%. O corno era serrado com uma serra de cortar ferro, e em seguida a pele era rebatida do contato com o crânio para que facilitasse a sutura, sendo esta era realizada com fio de nylon e os pontos executados eram simples isolados. O animal era medicado após a cirurgia com uma bisnaga de gentamicina e com spray cicatrizante e repelente. Os animais não apresentaram problemas no pós-cirúrgico, e após dez dias foram retirados os pontos, não observando problema no local da cirurgia, não havendo a necessidade de uso de antimicrobiano, apenas realizando a limpeza e aplicação do spray repelente e cicatrizante.

A descorna cirúrgica é uma técnica muito comum e bastante utilizada atualmente, o principal objetivo da realização do procedimento é redução das lesões e danos às carcaças causadas por lutas entre animais, também visa o aumento do número de animais confinados e melhora da estética nos mesmos.

Dentre as ocorrências mais comuns de problemas pós-operatórios desse procedimento, tem-se a deiscência, principalmente quando a sutura é feita sob tensão, por não ter uma margem adequada para aproximação das bordas (DIAS, 2012).

3.4 – Exame Andrológico

Foram realizados exames andrológicos em 62 touros com idades variáveis entre três e seis anos, os animais eram das raças Angus, Brangus, Hereford, Simental, Brahman e Tabapuã. Primeiramente era realizado o exame físico no animal, onde eram avaliados funções vitais e condição corporal, também se tinha um cuidado especial quanto aos exames de brucelose e tuberculose, na ocasião não foram realizados os exames, pois os mesmos já haviam sido feitos dias atrás. A coleta do material era realizada com o animal contido em um tronco, através do eletroejaculador e/ou massagem prostática. O eletroejaculador emite uma carga de quatro volts estimulando a próstata, glândulas vesiculares e bulbouretrais, fazendo com que o animal ejacule para que possa ser realizada a avaliação espermática do mesmo. A massagem retal tem o mesmo princípio do eletroejaculador, ou seja, estimular o animal para que ocorra a ejaculação, pode ser realizada com as mãos espalmadas ou com os dedos fechados, fazendo uma leve pressão sobre a próstata e demais glândulas.

Após a coleta do material, era feita a avaliação de volume, aspecto, turbilhonamento (0- 5%), motilidade (0 – 5%), vigor (0- 5%), concentração do líquido seminal e também da circunferência escrotal e consistência dos testículos. Todos os itens eram avaliados separadamente para definir se o animal estava apto ou não para iniciar a estação reprodutiva.

A questão de libido não era avaliada, pois não existia fêmeas em cio no momento da realização dos exames. No entanto os animais eram avaliados posteriormente e verificado sinais positivos de um bom libido.

O exame andrológico é essencial para avaliar o potencial reprodutivo do touro, além de aumentar o desempenho, uma vez que doenças e anormalidades no organismo podem ser diagnosticadas e tratadas. O mesmo deve ser realizado antes do período de monta (CORTES, 2010).

O volume do ejaculado é dependente do método de colheita e não existe valor mínimo ou máximo estabelecido. O aspecto qualitativo e quantitativo pode ser avaliado visualmente pela cor e aspecto. A cor é alterada devido à presença de urina, sangue ou pus, enquanto o aspecto pode ser classificado em aquoso, leitoso, cremoso-fino, cremoso e cremoso espesso. Esta classificação apresenta relação com a concentração espermática. O turbilhonamento ou motilidade em massa é a avaliação que mede a intensidade de movimentação dos espermatozóides resultante da motilidade individual, do vigor e da concentração espermática. A escala de avaliação varia de zero a cinco, em que zero representa a ausência de movimento de massa, e cinco acentuada movimentação (OLIVEIRA, 2009).

A motilidade é uma avaliação subjetiva do percentual de espermatozóides com movimentos progressivos. O vigor deve ser avaliado concomitantemente, aferindo a intensidade de movimentação dos espermatozóides individualmente. A escala de avaliação também varia de zero a cinco, em que zero representa células paradas e cinco, movimento vigoroso e de alta velocidade (OLIVEIRA, 2009).

A concentração espermática é representada pelo número de espermatozóides por unidade de volume ejaculado. O método mais comum é a contagem em câmara de Neubauer.

Durante a realização do exame andrológico, medida de extrema importância é a tomada da circunferência escrotal. O tamanho dos testículos está diretamente relacionado com a capacidade de produção espermática. Touros com testículos mais desenvolvidos apresentam maior volume e maior concentração espermática no ejaculado, podendo servir a um maior número de fêmeas ou produzir maior número de doses de sêmen (BARBOSA, 2003).

O desempenho reprodutivo sofre influências de alguns fatores como: idade, disposição física, hereditariedade, alimentação, manejo entre outros. Ao final dos exames é emitido um laudo de avaliação dos animais, onde os touros são classificados como aptos, inaptos ou questionáveis, onde os questionáveis devem ser submetidos a um novo exame andrológico após 60 dias, esse período se faz necessário para que ocorra a formação dos espermatozóides.

3.5 - Protocolo de IATF e Inseminação

Foram protocoladas 798 fêmeas bovinas para realização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), tratando-se de animais zebuínos em sua maioria, com uma pequena porcentagem, cerca de 5% de animais cruzados. O período em que foi realizada a atividade não é o mais propício, visto que as fêmeas se encontravam com um escore corporal abaixo do esperado, em razão da baixa oferta de forragens decorrente do inverno rigoroso que teve na região. Um grande número de animais apresentava classificação dois de escore corporal, numa escala de 1 a 5, sendo que o mínimo indicado para realização da IATF é 2,5, onde o animal apresenta costelas, íleos e ísquios visíveis, porém a musculatura nas ancas já está côncava e os processos transversos começam a ser cobertos.

As inseminações eram realizadas durante os períodos matutinos e vespertinos de acordo com a retirada do dispositivo intravaginal. Nas fêmeas zebuínas era utilizado sêmen de touros Aberdeen Angus, já nas cruzadas se utilizava sêmen de touros Brahman, visando sempre fazer o acasalamento que tem maior aceitabilidade no mercado. Esse tipo de acasalamento nos proporciona um bezerro desmamado com maior peso, além das características maternas e paternas, envolvendo rusticidade, alto ganho de peso, marmoreio e boa cobertura de gordura na carcaça.

O protocolo utilizado nos animais era o seguinte: Dia 0 (manhã) – 2 mL de Benzoato de Estradiol + Implante de Progesterona; Dia 8 (período vespertino) – Retirada do implante + 2 mL de Prostaglandina + 2 mL de Benzoato de Estradiol + Chung (desmame temporário dos bezerros); a Inseminação artificial era realizada 36 horas após a retirada do implante.

Trata-se de um protocolo de 10 dias onde a progesterona iguala o ciclo reprodutivo das vacas, colocando todas no mesmo patamar fisiológico; o benzoato de estradiol induz a atresia do folículo dominante, já a prostaglandina é responsável pela luteólise. Uma técnica que foi testada neste protocolo que é descrita pela Tecnopec é o desmame temporário, popularmente chamado de “Chung”, que consiste na remoção temporária dos bezerros, causando um estresse nas fêmeas aumentando dessa forma a concentração de estradiol e a frequência dos pulsos de LH e, conseqüentemente, a taxa de crescimento folicular e ovulação.

Segundo Barros C.M. (2002), comparando um grupo controle e um grupo onde foi feito o “Chung”, temos um aumento significativo na taxa de prenhez, no grupo controle, 45,6% de fêmeas prenhes (35/77), já no grupo com o desmame temporário 67,6% (48/71). As principais dificuldades práticas de realizar o “Chung” são: perda de peso dos bezerros, diarreias, abandono do bezerro por vacas de primeira cria, rompimento de cercas e vacas machucadas por tentarem entrar no local onde estão as crias, estrutura adequada para realizar tal manejo, estresse nos animais, estresse dos funcionários devido a vocalização dos bezerros durante os dias em que ficaram separados de suas mães.

Durante o desmame temporário deve ser fornecido água a vontade, ração e forragem aos bezerros.

Os lotes dos animais selecionados para a IATF eram separados de acordo com a data de parição da fêmea, que no caso era de no mínimo 30 dias de parição para iniciar-se o protocolo. As fêmeas eram provenientes de lotes diferentes, pois conforme ocorriam os partos formavam-se novos lotes. Como o protocolo durava 10 dias, as fêmeas teriam no mínimo 40 dias para que ocorresse a recuperação do útero antes de serem inseminadas. Tempo este suficiente para uma completa involução uterina, quando a fêmea não passou por parto distócico ou retenção de placenta.

3.6– Programa de Transferência de Embriões em Bovinos de Leite

O programa baseia-se em transmitir genética do mais alto patamar para propriedades de bovinos leiteiros que possuam interesse em aumentar a eficiência produtiva e reprodutiva do seu rebanho. O produtor contrata o serviço da equipe de médicos veterinários e paga pelo serviço somente se houver resultados positivos, ou seja, se não houverem prenhez de origem de TE, não haverá prejuízo ao produtor.

No período do presente estágio foram realizadas Fecundações *in vitro* (FIV) para propriedades pequenas e grandes produtores, em caso de grande plantel onde possuíam fêmeas com genética mais apurada pôde ser realizada aspirações para utilizar nos próprios animais, enquanto em outras (pequenas propriedades) que não possuíam animais superiores, compravam de quem as tinha.

A transferência dos embriões poderia ser realizada no próprio local se o produtor tivesse receptoras disponíveis, dessa forma quando se confirmava a prenhez de fêmea, o custo por unidade era de mil litros de leite, sendo o pagamento iniciado a partir do momento da sexagem, já os que não possuíam receptoras os embriões eram encaminhados para a central de receptoras, uma localizada na cidade de Capitão Leônidas Marques e outra na cidade de Boa Vista da Aparecida, porém o custo era de três mil litros de leite, o dono da receptora cuidava desde a concepção da bezerra e entregava a mesma com 8 meses de idade já desmamada.

3.7 – Seleção de Receptoras para Transferência de Embriões

As fêmeas selecionadas para a transferência de embriões eram animais cruzados, meio sangue zebuino com europeu, a característica que se buscava era rusticidade, boa produção de leite, habilidade materna e mansidão para facilitar o manejo. Procura-se selecionar novilhas com base em alguns resultados que demonstram maior taxa de concepção, considerando animais múltiparos era feita uma análise de todo o histórico reprodutivo para se avaliar a eficiência reprodutiva até o presente momento.

Um fator muito importante, fundamental na seleção das fêmeas é o peso do animal e escore corporal, sendo o valor mínimo aceitável desde de 2,5, abaixo dessa faixa era feito o descarte do animal. Também é considerado conformação, aparelho mamário e reprodutivo de acordo com os padrões considerados aceitáveis. Todos os animais apresentavam brincos de identificação, em algumas era realizada a palpação retal para averiguar se realmente a fêmea encontrava-se vazia, pois houve alguns casos em que os animais escapassem para pastagens vizinhas onde havia touros.

Assim, configurava-se que animais zebuínos puros, com chifres, baixo peso, baixo escore corporal, com alguma deficiência anatômica e com idade avançada, não entravam no plantel de receptoras. Já os animais selecionados eram vermifugados e permaneciam na central aguardando o momento que seria feita a sincronização para transferência de embrião (TE).

3.8 – Aspiração Folicular (OPU), Fecundação “in vitro” (FIV) e Transferência de Embriões (TE)

A aspiração folicular era marcada com antecedência devido ao fato de sincronização das receptoras, para que estas tenham um corpo lúteo com a mesma idade dos embriões que futuramente irão receber. A sincronização é realizada de duas maneiras sendo elas: de observação de cio, onde é aplicado na receptora um hormônio comercial à base de prostaglandina, era usado Lutalyse[®] 5 mL ou Ciclar[®] 2 mL aproximadamente 24 a 72 horas antes da aspiração da doadora, e anotado pelo funcionário que observa os animais se o cio foi no período da manhã ou a tarde. Outro método de sincronização é para transferência de embriões em tempo fixo (TETF) aonde utiliza-se dispositivo intra-vaginal com progesterona como exemplo o CIDR[®] ou CRONIPRESS[®]. No dia zero é feito o implante do dispositivo associado com benzoato de estradiol (2 mL) e entre os dias 7 e 10 (dependendo da conveniência) será retirado o implante aproximadamente 24 horas antes da aspiração da receptora, no dia da retirada aplica-se 2 mL de prostaglandina associado à ciproionato de estradiol ou benzoato de estradiol.

Fêmeas paridas a pouco tempo, com alta produção de leite, geralmente apresentam baixo número de oócitos, pois a célula ovariana necessita de energia para desenvolvimento de folículos, nesta fase as fêmeas utilizam até as reservas energéticas para produzir leite, não tendo condições nutricionais de gerar folículos viáveis para a aspiração.

Para a realização da aspiração a campo, são utilizados meio de cultura para manter o oócito a ser coletado em condições de desenvolvimento e fecundação, para isso é preparado o que se chama de criotubo, recipiente para armazenamento de oócitos aspirados. Este criotubo é preparado com no mínimo 2 horas de antecedência da saída da equipe, sendo composto inicialmente de 400 µL de meio de maturação, depois adicionando-se 300 µL de óleo mineral, passando por uma mistura gasosa de dióxido de carbono (CO₂) à 5%, finalizando com vedação no transportador de embriões. Este transportador é uma micro estufa portátil que mantém a temperatura programada, assim pode-se enviar o meio para o campo com segurança. Os meios utilizados são adquiridos de fora, de um laboratório especializado e com equipamentos apropriados que confeccionam e comercializam meios de cultura para desenvolvimento de embriões.

Para a aspiração folicular é utilizado aparelho de ultrassonografia (Figura 2) com uma probe especial para aspirar, bomba a vácuo, aquecedor de tubos à 36,5 a 37°C, aquecedor de bolso à 37°C, tubos falcon, camisinha para a probe, papel toalha, soro fisiológico, agulhas 40x12 mm, agulhas 0.9x50 mm para aspiração, seringa 20 mL e anestésico local. Antes de iniciar o procedimento, os animais são submetidos a anestesia epidura com cloridrato de lidocaína 2% , higienizados com papel toalha e então introduzida a probe transvaginal, com auxilio manual via retal são localizados os avarios e constatando presença de oócitos por meio de visualização na tela do equipamento de ultrassonografia inicia-se o processo de aspiração, que dura em torno de 5 à 15 minutos dependendo do numero de oócitos. Ao término do procedimento no animal o veterinário faz uma previsão da quantidade de oócitos que foram aspirados e a identificação do animal, em seguida é encaminhado para a seleção.

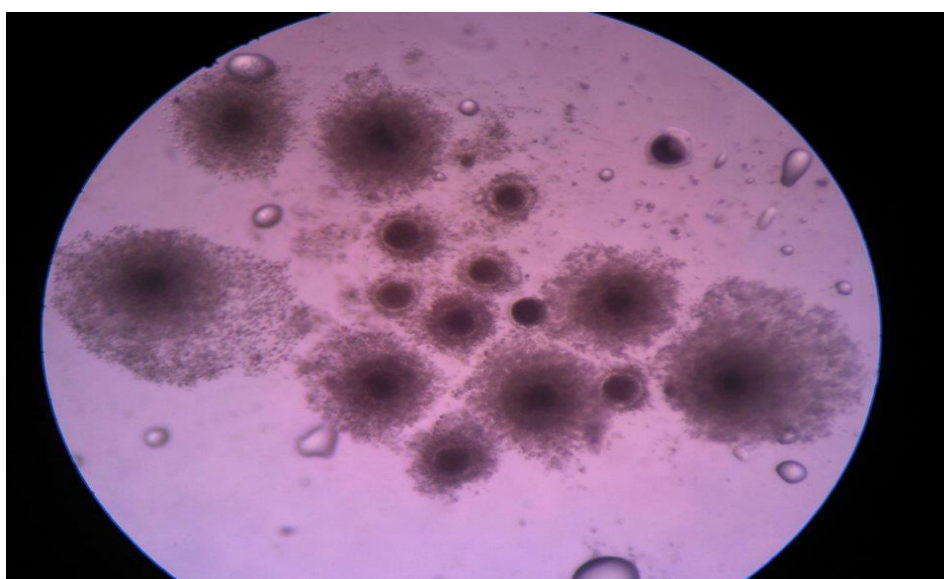
Figura 2- Mesa de “OPU” com seus equipamentos.



A seleção de oócitos é realizada ainda na propriedade onde ocorre a aspiração, em um laboratório de campo montado em local fechado de preferência que não tenha vento, composto por mesa, campo estéril para recobrir a mesa aonde serão colocados os equipamentos, transportador de embriões (aonde esta armazenado o meio de maturação), lupa, filtros, placas de petry estéreis, pipetador, ponteiros para manuseio de oócitos, placa de platina aquecedora, banho-maria com água aquecida a 37°C, dentro do banho-maria fica a solução DMPBS-FLUSH que é uma solução fisiologia com gentamicina que é aquecida para fazer a lavagem dos filtros.

Da mesa de aspiração, os oócitos são levados rapidamente até o selecionador em um tubo *falcon* protegido de luz solar, para que não se perca temperatura. O selecionador filtra e lava este conteúdo aspirado várias vezes com a solução DMPBS aquecida, com cuidado quanto a pressão utilizada para que neste momento não danifiquem os oócitos. Após filtrado o conteúdo é transferido para uma placa de petry (uma placa por animal) só então o selecionador observa e classifica os oócitos coletados como Grau I, Grau II, Grau III, desnudo ou sem cumulus (Figura 3), sendo que o melhor ovócito é o grau I, neste se observa uma grande quantidade de células do cumulus, que ajudam o espermatozóide no momento da fertilização.

Figura 3- Imagem de oócitos, quando chegaram ao laboratório após aspiração e seleção.



Em uma segunda placa são feitas três gotas de meio de lavagem de 70µL cada gota, então são retirados todos os oócitos da placa contendo solução DMPBS aquecida e passados para a primeira gota desta nova placa, existe uma cumplicidade entre aspirador e selecionador quanto ao número de oócitos colhidos, neste momento o selecionador confirma o número previsto pelo veterinário aspirador tendo uma margem de erro de 5 oócitos para mais ou 5 oócitos para menos, após o repasse de toda a placa e verificação de que não se tem nenhum oócito perdido então é feita a lavagem desses oócitos com uma piteta de 100 µL, regulada em 10 µL, com a ponteira delicada, nessas três gotas antes citadas.

Este processo é realizado para que se retire o maior número de impurezas possíveis dos arredores dos oócitos reduzindo dessa maneira a carga bacteriana, caso ocorra contaminação fecal o responsável pela aspiração deve comunicar o laboratorista para que o mesmo tome maior cuidado no momento da seleção dos oócitos. Nesta avaliação também é possível orientar o aspirador a respeito da pressão exercida pela bomba de vácuo, pois já se observa a quantidade e qualidade de células presentes nos oócitos.

Ao término da lavagem dos oócitos, independente do grau de classificação, todos são transferidos para os criotubos previamente preparados no laboratório contendo meio de maturação (meio MIV) e óleo mineral. Este criotubo agora com os oócitos colhidos e selecionados também são identificados com o nome da vaca doadora e conservados no transportador de embriões à 38°C até a chegada ao laboratório. Ao término de todo o processo de aspiração na fazenda os materiais já são separados, pois alguns materiais utilizados são esterilizados, outros são higienizados e alguns descartados.

De volta ao laboratório é feito um preparo de placas com meio de maturação (MIV) para receber estes oócitos colhidos a campo com no mínimo 1 hora de antecedência da chegada dos mesmos, para que se tenha uma estabilidade na temperatura da estufa a 38°C. Para o preparo desta placa é utilizada uma pipeta automática de 100 µL, está é ajustada para 30 µL para fazer as primeiras gotas. Usa-se cinco gotas por placa, as gotas são colocadas no sentido horário ao redor da placa sem encostar na parede, após completada a placa com as gotas de 30 µL é acrescentado 4 mL de óleo mineral também aquecido e estável a 38°C o qual tem a função de manter a temperatura e o Ph do meio estável, em seguida é acrescentado mais 60 µL de meio “MIV” para que a gota feche no total de 90 µL para cada 25

oócitos, os oócitos permanecem neste meio por 24 à 26 horas dentro da estufa à 38°C.

No dia zero considerado o dia da fecundação *in vitro* (FIV) são feitas as placas de meio FIV com 30 µL de meio FIV acrescentada de 4 ml de óleo mineral depois mais 60 µL de meio FIV para fechar as gotas com total de 90 µL de meio FIV por gota, estas placas também foram equilibradas na estufa à 38°C com no mínimo 1 hora de antecedência. Agora é preparada uma placa para lavagem dos ovócitos para passa-los da placa de maturação para a placa de fertilização, ainda com a ideia de deixar para traz o máximo de impurezas, as gotas de lavagem são feitas com 70 µL de meio FIV depois da lavagem os oócitos são passados para a placa de FIV e colocados novamente na estufa para receber os espermatozóides processados.

O sêmen é capacitado pelo método de percoll por lavagem, este método é utilizado em sêmen mais viscoso, leitoso, que contém uma quantidade menor de espermatozóides e aqueles congelados a campo para diminuir a carga bacteriana.

São separados quatro microtubos do tipo eppendorf de 0,5mL, o primeiro destina-se para a centrifugação, o segundo para avaliar a motilidade, o terceiro para avaliação da concentração e o quarto para diluição do sêmen. No processamento do sêmen há protocolos diferenciados para sêmen sexado, convencional e contaminado.

Para a fertilização acrescenta 8µL do conteúdo do quarto eppendorf em todas as gotas da placa de FIV contendo oócitos agitando-os dentro da gota e observando a movimentação dos espermatozoides com um maior aumento da lupa, esta placa será observada depois de 21 horas.

No primeiro dia considerado o dia do Cultivo, as estruturas já estão em fase de mórulas, ou seja, já esta havendo a divisão celular, as placas de cultivo são feitas com 30 µL de meio SOF acrescentado 4 mL de óleo mineral depois do óleo mais 70 µL novamente de meio SOF totalizando 100 µL deste meio. Agora os supostos embriões serão lavados no meio SOF da mesma maneira, em três gotas de 70 µL, descumulando os embriões, porém não com muita pressão, para não prejudicar seu desenvolvimento, somente após esta lavagem serão passados para a placa de cultivo aonde ira ocorrer o desenvolvimento embrionário.

Após 48 horas considerado terceiro dia a partir do dia do cultivo, é feito o primeiro *FEEDING* ou alimentação, esta consiste em retirar 50 µL da gota da placa de cultivo e acrescentar 50 µL de meio SOF, assegurando que não ocorre oxidação

e melhorando a qualidade do cultivo. Assim vai se observando o desenvolvimento dos embriões. O próximo *FEEDING* será realizado no dia 5, (após 48 horas do primeiro).

No sexto dia de cultivo é realizada a previsão de quantos embriões tem condições de serem implantados, ou seja, de quantos passarão da fase de mórula para blastocisto e se tem condições de se desenvolverem no próximo dia e se a quantidade aumentará.

No sétimo dia é realizado o envase dos embriões e a classificação dos mesmos como: mórula, blastocisto de Grau I, II, III, blastocisto expandido. Com o meio H – SOF calcula-se 250 µL por embrião a ser envasado. Coloca-se apenas um embrião por palheta dispostos da seguinte maneira, meio H – SOF, bolha de ar, embrião, bolha de ar e meio H – SOF, bolha de ar, e identifica a palheta com grau do embrião e acasalamento, todos os embriões do mesmo acasalamento são embalados juntos com papel alumínio e selados com uma etiqueta com a mesma identificação da palheta. Juntamente com a ficha do laboratório onde consta os acasalamentos, quantidade de embriões, qualidade e ordem.

A produção *in vitro* de embriões vem sendo com o passar dos anos introduzida cada vez mais nos programas de melhoramento genético animal, sendo que nos últimos anos tem um aumento significativamente no país. Atualmente o Brasil ocupa uma posição de destaque no cenário mundial com consequente reconhecimento internacional, sendo responsável por quase 50% da produção mundial de embriões *in vitro*. Esta atividade concentrou-se, principalmente, em raças zebuínas de corte e seu sucesso se deve, entre outros fatores, à fisiologia reprodutiva dessas raças, que apresentam maior número de folículos disponíveis nos ovários em relação aos taurinos (VIANA & CAMARGO, 2007).

O aprimoramento de novas biotecnologias tem permitido um aumento significativo na produção animal, especialmente em bovinos, dentre elas estão a inseminação artificial (IA), criopreservação de gametas e embriões; superovulação e transferência de embriões (TE); sexagem espermática e embrionária, recuperação de ovócitos e a fertilização *in vitro* (FIV) (BARCELOS et al., 2009).

As etapas envolvidas na Produção de embriões *in vitro* (PIV) compreendem a coleta de oócitos, maturação *in vitro* (MIV), fecundação *in vitro* (FIV), bem como o cultivo embrionário *in vitro* (CIV) até os estágios de mórula e blastocisto, quando os embriões poderão ser transferidos ou criopreservados (VARAGO et al., 2008).

As diversas vantagens e aplicações da produção *in vitro* de embriões (PIV) estão relacionadas à determinação e controle do sexo dos produtos, aumento da eficiência dos programas de produção, rápidas e melhores possibilidades para executar programas de cruzamento, avaliação do efeito materno sobre a descendência, rápida multiplicação de raças, facilidade de importação e exportação de material genético da fêmea, formação de bancos de gametas congelados, aumento da eficiência do sêmen congelado de alto valor genético, e estudo e desenvolvimento de outras biotecnias reprodutivas a partir da micromanipulação de gametas e embriões (GONÇALVES *et al.*, 2002).

Segundo GONÇALVES *et al.* (2002), cada fêmea bovina é capaz de produzir 50 a 100 embriões/ano, com um regime de duas punções semanais por doadora, durante vários meses.

Para a produção *in vitro* necessita-se de protocolos eficientes para favorecer a sanidade do rebanho e resultados satisfatórios. Uma vez que a mortalidade fetal e embrionária afeta de forma significativa os índices reprodutivos dos rebanhos. Sendo que a maioria das perdas embrionárias ocorre durante os primeiros dias após a fertilização e durante o processo de implantação do embrião no útero. Dentre as diversas causas de perdas embrionárias estão as causas infecciosas as quais devem-se as bactérias, vírus e protozoários específicos do trato reprodutivo que penetram no útero por via hematogênica ou pela vagina (GARCIA, 2007).

Na FIV podem ser utilizadas como doadoras novilhas pré-púberes, vacas em anestro pós parto e fêmeas no 1º trimestre de gestação, considerando ainda, a possibilidade da sexagem do sêmen, a fim de produzir o animal que melhor convém ao tipo de produção.

Após a aspiração folicular guiada por ultrassom, os oócitos recebem uma classificação de acordo com a morfologia na tentativa de identificar os de maior viabilidade. Esta classificação segundo GONÇALVES *et al.* (2008) e SENEDA *et al.* (2006), possui escala de 1 a 4 e considera características das células do cumulus, devendo estar envolto por várias camadas compactas destas, e do citoplasma que deve estar homogêneo, com granulações finais e coloração marrom. A classificação segue a seguinte regra: Grau I: Apresenta-se com células do cumulus envoltas em mais de três camadas, com citoplasma homogêneo, com granulações finais, preenchendo completamente o interior da zona pelúcida e de coloração marrom; Grau II : As células do cumulus encontram-se parcialmente compactadas, em

menos de três camadas celulares. O citoplasma é com granulações distribuídas de maneira heterogênea, podendo estar mais concentradas em determinados locais, também preenche completamente a zona pelúcida; Grau III : As células do cumulus demonstram-se presentes, porém expandidas. O citoplasma fica contraído, degenerado, vacuolizado ou fragmentado, preenchendo irregularmente a zona pelúcida; Grau IV : Ausência de células do cumulus, apresentando-se desnudo.

Após a seleção os oócitos seguem para as etapas seguintes que são: Maturação, Fertilização e Cultivo.

Maturação *in vitro*: Para que o oócito seja capaz de ser fecundado e posteriormente se desenvolver até o estágio de blastocisto, precisa ser maturado e, durante essa fase, sofrer diversas transformações tanto em seu citoplasma quanto em seu núcleo. Durante todo o seu desenvolvimento, o oócito se encontra no estágio diplóteno da prófase I ou estágio de vesícula germinativa (VG). *In vivo*, o reinício da meiose, ou maturação, tem início após o pico pré-ovulatório de LH durante o estro e, a retirada do oócito do contato com as células foliculares é suficiente para dar início ao processo de maturação nuclear. A maturação nuclear do oócito compreende a progressão do estágio diplóteno da primeira prófase meiótica até a fase de metáfase II (MII). Em bovinos, o período de maturação varia de 18 a 24 horas em atmosfera controlada contendo 5% de CO₂ em ar e umidade saturada (GONÇALVES *et al.*, 2007).

Fertilização *in vitro*: A fertilização é realizada em temperatura de 39 °C, atmosfera com 5% de CO₂ e umidade saturada. Os espermatozóides viáveis contidos em uma palheta de sêmen precisam ser separados do plasma seminal, crioprotetores, extensores e dos espermatozóides mortos antes de serem fertilizados com os oócitos. Em bovinos, os métodos de separação espermática mais utilizados são o gradiente de PERCOLL e o *swim-up*. Após a separação, os espermatozóides são diluídos a uma concentração de 1 a 5 x 10⁶ spz/mL de meio (GONÇALVES *et al.*, 2007).

Cultivo *in vitro* de embriões: Em alguns laboratórios o cultivo de embriões com células somáticas foi utilizado por muitos anos com bons resultados. Entretanto, esse sistema tem sido substituído ao longo do tempo por sistemas mais simples que utilizam meios semi-definidos como os meios Charles Rosenkrans-1 (CR-1), Charles Rosenkrans-2 (CR-2; ROSENKRANS *et al.*, 1993), meio simples otimizado enriquecido com potássio (KSOM) e fluído sintético de oviduto (SOF) associados a

uma atmosfera gasosa controlada contendo baixa tensão de oxigênio (GONÇALVES *et al.*, 2007). Fatores de crescimento como o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e fator de crescimento e transformação $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) têm sido adicionados ao meio de cultivo *in vitro* objetivando melhorar o desenvolvimento embrionário (MATSUI *et al.*, 1997).

O tempo de cultivo *in vitro* varia de 7-9 dias, dependendo do objetivo da rotina de produção *in vitro* (PIV), em temperatura de 39°C com atmosfera controlada (5% de O₂, 5% de CO₂ e 90% de N₂) e umidade saturada. A taxa de blastocisto geralmente é avaliada no 7º dia de cultivo *in vitro* sendo que, os blastocistos produzidos podem permanecer na estufa de cultivo até o 9º dia caso se deseje avaliar a taxa de eclosão *in vitro* (GONÇALVES *et al.*, 2007).

A transferência dos embriões é realizada no sétimo dia, sendo que o ciclo da produção dos embriões desde a coleta dos oócitos até o dia da transferência dos embriões decorre sete dias, considerando dia zero, o dia da fertilização. Os embriões são embalados e colocados na transportadora de embriões para o transporte até a propriedade de transferência em temperatura de 37°C.

Para realizar a transferência os animais devem ser conduzidos com calma e se possível em horários mais frescos do dia, a fêmea é colocada no tronco de contenção e avaliada, o veterinário faz a palpação verificando a presença de corpo lúteo, caso não apresente corpo lúteo o animal é dispensado da transferência. O aplicador é preparado logo após a avaliação do animal para que permaneça o menor tempo possível em temperatura ambiente, no momento da transferência é avaliado o grau de dificuldade da mesma, esses dados são transcritos para a ficha de campo e posteriormente passadas para o proprietário do programa. Após 30 dias a equipe volta na propriedade em que foram feitas as transferências para realizar o diagnóstico de gestação, após este procedimento é possível saber em porcentagem a quantidade de prenhez que se obtiveram e com 60 dias é feita a sexagem dos fetos.

3.9 - Coleta de Sêmen

Durante o período de realização do estágio, foi coletado material genético (sêmen) de dois touros, sendo um Jersey e um Brahman. No animal Jersey o objetivo era o armazenamento do sêmen, sendo o animal de boa procedência e

apresentava descendentes com características desejáveis em relação ao padrão da raça. O método utilizado para coleta de sêmen deste animal foi com a vagina artificial e com a presença de uma vaca em cio, pois o mesmo era muito sensível ao uso do eletroejaculador. O animal foi colocado em um espaço relativamente pequeno na presença de três fêmeas em cio, no momento em que o mesmo realizou a cobertura seu pênis foi desviado para a direita e encaixado na vagina artificial onde ocorreu a coleta do ejaculado em um tubo falcon de 10 mL.

No animal da raça Brahman o método de coleta foi semelhante ao touro Jersey, porém a decisão de não usar o eletroejaculador era devido ao tamanho do animal, porque o mesmo não cabia no tronco de contenção. Assim para realizar a coleta foi realizado tratamento hormonal para que duas ou três fêmeas expressassem cio para estimular o animal e proceder o trabalho. O objetivo da coleta de material era a comercialização do sêmen, visto que o mesmo é um dos Touros da raça Brahman mais reconhecidos no Brasil.

Após a realização da coleta o material era encaminhado para o laboratório onde era feito a análise, diluição, envase e congelamento do produto.

3.10 - Mastite

Mastite é a doença infecciosa mais prevalente em vacas leiteiras. Várias espécies de bactérias, fungos, micoplasmas e algas foram isoladas de casos naturais ou reproduzidas experimentalmente (ANDREWS, 2008).

A mastite é a inflamação da glândula mamária, que causa grandes perdas econômicas decorrentes da redução na produção de leite, gastos com medicamentos, gastos com assistência veterinária, descarte de leite contaminado após tratamento e descarte de animais. A etiologia da mastite é bastante diversificada, sendo que os casos de importância econômica são causados por microrganismos (COSTA, 1998).

A mastite clínica caracteriza-se por alterações visíveis da glândula mamaria e/ou do leite. A mastite subclínica se caracteriza pela diminuição da produção leiteira sem que sejam observados sinais de processo inflamatório, porém observa-se o aumento na contagem de células somáticas quando realizada análise laboratorial, e até mesmo alteração na consistência do leite ao realizar o teste Califórnia Mastite Teste (CMT).

No decorrer do estágio foi atendida uma propriedade com um surto de mastite devido ao não ordenhamento dos animais, houve uma queda de energia na região e os animais ficaram dois dias sem serem ordenhados. Foram constatados doze animais com mastite clínica e quarenta e três com mastite subclínica. Foi acompanhando todo o processo de ordenha, realizando em todos os animais o teste da caneca de fundo escuro e o teste CMT. Já haviam algumas fêmeas que apresentavam mastite crônica na propriedade, agravando ainda mais o quadro das mesmas com este episódio. O tratamento realizado variava de um animal para outro, os mais utilizados na ocasião foram aplicados um antibiótico intramuscular a base de Sulfato de Cefquinoma (Cobactan) ou Sulfadoxina e Trimetoprim (Borgal) ou Enrofloxacin (Kinetomax) e o uso de um antibiótico intramamário a base de Sulfato de Cefquinoma (Cobactan VL) ou Cabitracina de zinco (Mastinjet Forte) e para auxiliar na diminuição do edema e sinais inflamatórios o uso de Flunixin Meglumine (Flunixin), em casos mais graves onde o animal já se encontrava em estado de choque endotóxico era utilizada fluidoterapia com cloreto de sódio 0.9%.

Na rotina prática da empresa sempre se recomenda o uso do CMT que é utilizado como um método para detecção de mastite subclínica em vacas. É um teste rápido e simples que estima a contagem de células somáticas (CCS) no leite, são realizadas amostras individuais de cada teto ou compostas dos quartos mamários do animal. O reagente do CMT é um detergente que possui um indicador de pH, quando o leite é misturado ao CMT em quantidades iguais, este reagente dissolve ou rompe a membrana das células de defesa (leucócitos) e o material genético (DNA) da célula é liberado. O DNA formará uma massa ou gel. Quanto maior o número de leucócitos, maior a quantidade de gel formada.

A CCS é um teste mais preciso quando comparado ao CMT, por expressar os resultados de forma quantitativa, ou seja, o número exato de células, enquanto que o CMT expressa os resultados de forma qualitativa, onde os resultados são divididos por categoria e variação de acordo com a pessoa que está fazendo o teste. Entretanto, muitas vezes os resultados de CCS não são obtidos de forma rápida e algumas decisões na fazenda devem ser tomadas de forma imediata. Nesse caso, o CMT é uma ferramenta importante.

Para realização da CCS o leite era coletado individualmente de cada animal através do medidor ou do galão de leite, e era armazenado em um tubo com conservante à temperatura ambiente (Figura 4), após chegar no escritório a amostra

era conservada em geladeira até o dia do envio para o laboratório. Junto com as amostras individuais sempre se encaminhava uma amostra do leite do tanque de refrigeração.

Em alguns produtores com casos graves de mastite, também era solicitado cultura e antibiograma da amostra de leite de alguns animais, porém para realizar esse procedimento o leite era coletado, congelado e posteriormente encaminhado da propriedade para o escritório da B&M e em seguida para a análise laboratorial.

Figura 4- Caixa com amostras de leite coletadas para análise laboratorial, numeradas de acordo com as respectivas vacas.



3.11 – Freemartin

De acordo com ALMEIDA e RESENDE, o termo *freemartin* é utilizado para designar uma vaca ou novilha estéril, porém aplica-se a mesma nomenclatura para uma fêmea concebida em uma gestação múltipla heterossexual.

Segundo COSTA e SILVA, o fenômeno freemartin representa a forma mais frequente de intersexualidade encontrada em bovinos. Quando há o nascimento de animais gêmeos de sexo distinto, a fêmea terá grande possibilidade de ser infértil em cerca de 90 a 95% dos casos, isto porque no início da gestação, em torno no 40º dia, ocorre uma fusão dos vasos que nutrem os fetos denominada anastomose vascular responsável pela exposição dos fetos a um mesmo “ambiente” hormonal, os fluídos dos dois fetos são misturados. Isto causa troca de sangue e antígenos que levam características que teriam que ser diferentes para os machos e para as fêmeas, onde se tem pouco ou nenhum efeito sobre estrutura da gônada e do trato reprodutivo nos machos (Figura 5). Estes quando afetados apresentam baixa fertilidade ou hipoplasia testicular enquanto nas fêmeas, a troca de sangue resulta em vários níveis de masculinização do trato reprodutivo como esterilidade, clitóris hipertrofiado (Figura 6), presença de pêlos longos na vulva, vagina mais curta em fundo cego, ausência de cérvix, vestígios de gônadas masculinas e hipoplasia dos ductos de Müller.

O diagnóstico precoce de fêmeas estéreis torna-se extremamente importante para os pecuaristas, pois com isso poderá economizar em alimento, mão de obra e maximização do espaço físico da propriedade.

A indicação dos médicos veterinários da B&M Consultoria é para o descarte das fêmeas nascidas de gestação gemelar com um macho, visto que a probabilidade de infertilidade da fêmea é muito grande, gerando custos e perda de tempo para o proprietário. Houve durante o período de estágio vários casos relatados pelos proprietários de novilhas que não apresentavam cio e tinham comportamento de macho. O procedimento adotado era a avaliação física do animal, seguido da avaliação ginecológica, onde na grande maioria dos casos se constatava a ausência de todo trato reprodutivo interno.

Figura 5 - Durante a gestação de gêmeos, a membrana placentária é compartilhada entre os fetos, havendo com isso um elo entre os fetos e a placenta.



Fonte: <http://www.thecattlesite.com/articles/975/what-is-a-freemartin>

Para que ocorra o freemartismo em bovinos, são indispensáveis algumas condições, primeiro que haja liberação de dois oócitos, sendo um deles fecundado por espermatozóide X e o outro fecundado por espermatozóide Y, gerando gêmeos dizigóticos; segundo a implantação de heterossexos (XX e XY) no útero; e por último que se produza fusão placentária durante a gestação precoce, levando a anastomose de vasos sanguíneos cório-alantóideos, entre os embriões, culminando com a modificação na organogênese feminina (GRUNERT *et al.*, 2005).

Ainda segundo GRUNERT *et al.* (2005), a anastomose dos vasos cório-alantóideos e a fusão da circulação das membranas fetais permitem o intercâmbio de várias substâncias, mas principalmente de andrógenos de origem testicular, de células (hemácias e leucócitos) e do TDF (fator de diferenciação testicular).

Em relação à vida do freemartin seu prognóstico é bom, pois os animais se desenvolvem adequadamente, e podem ser utilizados quando for conveniente para produção de carne de vitela ou submetido a sistema de engorda (GRUNERT *et al.*, 2005). Porém em relação a função reprodutiva, o prognóstico é ruim, visto que esses animais são estéreis.

Figura 6– Formação hiperplásica na vagina de bezerra freemartin.



Fonte: Almeida J e Resende OA

3.12 – Diagnóstico de Gestação em Bovinos

Durante toda rotina de estágio na B&M Consultoria, a atividade mais desenvolvida foi a de diagnóstico gestacional, visto que o foco principal da empresa está baseado no acompanhamento da reprodução de bovinos leiteiros. Os animais eram avaliados mensalmente, para se obter um parecer real da situação do plantel, a cada visita eram avaliados os seguintes itens: data do parto; dias de produção de leite; data da última cobertura; data de secagem; diagnóstico anterior; tratamento anterior; diagnóstico atual, tratamento atual, condição corporal anterior e condição corporal atual. A seguir segue a descrição (Tabela 2) dos dados a respeito do número de animais diagnosticados prenhes, assim como a reconfirmação destas prenhez.

Tabela 2-Confirmação de prenhez com o uso de aparelho ultrassonográfico durante estágio na B&M Consultoria Agropecuária, durante o período de 14 de outubro à 22 de novembro de 2013, com números absolutos e porcentagens.

Atividade	Nº de casos	%
Diagnóstico até 30 dias de gestação	78	6,05
Diagnóstico entre 31 e 60 dias de gestação	421	32,64
Confirmação entre 61 e 120 dias de gestação	376	29,15
Reconfirmação entre 181 e 230 dias de gestação	415	32,16
Total	1290	100

A ultrassonografia na medicina veterinária teve seu início em meados de 1940, quando houve a introdução do ultrassom como método diagnóstico. A primeira aplicação no diagnóstico de gestação foi em ovinos no ano de 1966, já em bovinos sua utilização deu-se em meados dos anos 80, desde então, melhorias na qualidade de equipamentos levaram ao uso desta técnica nos diversos campos da veterinária (SEOANE, 2011).

O uso da ultrassonografia em reprodução de fêmeas bovinas vem aumentando significativamente nos últimos anos, fazendo desta maneira parte da rotina de muitas propriedades rurais. Essa técnica apresenta grande eficácia, uma vez que possibilita a visualização em tempo real das estruturas a serem analisadas. Além disso, é um método não invasivo, possibilita diagnósticos precoces e com grande precisão. Porém, para o correto uso da técnica é imprescindível, a correta interpretação das imagens formadas, bem como o correto manuseio dos aparelhos e transdutores disponíveis (FILHO, 2010).

Segundo HAFEZ e HAFEZ (2004), a determinação do diagnóstico positivo ou negativo da gestação representa um considerável valor econômico, além de ser uma importante ferramenta para o manejo reprodutivo. Em geral, o diagnóstico precoce da gestação é requerido para: identificar animais vazios o mais rápido possível após cobertura ou inseminação artificial, de modo que a perda de tempo e de produção por infertilidade possa ser reduzida por tratamento adequado ou descarte; certificar animais para venda ou com finalidade de seguros; reduzir gastos em programas de

reprodução com utilização de técnicas hormonais dispendiosas e colaborar no manejo econômico dos rebanhos.

O diagnóstico de gestação era procedido a partir do 28º dia da inseminação artificial ou monta natural, (Figura 7). Caso a fêmea estivesse com uma cobertura com idade inferior à 28 dias o diagnóstico era realizado na visita do mês seguinte. Após a confirmação da prenhez o animal continua sendo examinado nos próximos três meses até completar 120 dias de gestação, visto que nesta fase há uma maior probabilidade de ocorrer absorção do conceito. Entre o período de 120 à 180 dias de gestação não é realizada a ultrassonografia, exceto se houver suspeita de aborto ou mumificação. O exame reinicia no 181º dia de gestação, período este próximo da secagem da fêmea e tem por principal finalidade averiguar a presença do feto, com o objetivo de não secar animal vazio.

Com o transdutor pressionado no assoalho do reto mantendo contato com a superfície dorsal do trato reprodutivo, o diagnóstico precoce de gestação nos grandes animais é realizado com a observação da vesícula alantoideana no corno uterino, bem como a detecção de um corpo lúteo no ovário, variando com a espécie em questão (WOLF E GABALDI, 2002).

Segundo WOLF e GABALDI (2002), a acurácia do diagnóstico precoce de gestação varia muito e depende de alguns fatores, tais como: tipo e frequência do transdutor, repetição do exame, idade, raça e número de parições dos animais, dias pós cobertura ou inseminação, exame dos ovários e a experiência e as condições de trabalho do técnico.

As características clínicas observadas nos diferentes estágios de gestação da vaca segundo PIMENTEL (1998), através de palpação retal, são as seguintes: 28 dias: geralmente só é viável em novilhas, caracteriza-se por apresentar um espessamento da vesícula embrionária no corno uterino gestante; 32 dias: realiza-se o beliscamento (deslizamento do corio-alantóide sobre a parede do útero) demonstrando a presença de paredes duplas. Esse procedimento deve ser realizado no corno oposto ao do corpo lúteo, onde se encontra o embrião, para que este não seja lesionado. Nesse período a placenta já se expandiu pelos dois cornos; 45 dias: a assimetria é evidente e denomina-se pequena bolsa; 90 dias: o útero pode ser contornado em toda sua extensão, com a mão, e chama-se grande bolsa; 120 dias: o útero toma forma de balão e não se consegue passar a mão por debaixo dele, encontra-se distendido e tenso, a partir desse período nota-se

o frêmito da artéria uterina média; 5 meses: a cervix está pesada e afunilada para baixo e essa fase é denominada fase de descida; 6 meses: o feto atinge a base do abdômen; 7 meses: o feto começa a voltar para a cavidade pélvica, palpa-se a cabeça do feto, denomina-se fase de subida; 8 meses: o feto começa a se posicionar para o parto .

Figura 7- Imagem ultrassonográfica após 28 dias da IA, a seta indica o embrião.



Fonte: Leandro Cruz

Em propriedades altamente tecnificadas que realizam inseminação artificial em tempo-fixado, o uso da ultrassonografia para diagnóstico de gestação possibilita o descarte total dos touros, pois fêmeas diagnosticadas vazias podem ser resincronizadas e inseminadas (SILVA, 2012).

Segundo HAFEZ e HAFEZ (2004), para a manutenção da gestação é necessária a presença de substâncias progestacionais, algumas servem como precursores de esteroides que também são necessários durante a gestação. O responsável pela produção do hormônio de manutenção da gestação, a progesterona, é o corpo lúteo (CL), este se desenvolve após o colapso no folículo ovulatório. O corpo lúteo aumenta de tamanho durante 2º ou 3º mes de gestação, e regride pelo 4º a 6º mes, após esse período se mantém em um tamanho constante até o parto, onde é degenerado uma semana depois. Com exceção da égua, nas demais espécies domésticas há a necessidade obrigatória de atividades secretoras contínuas do CL durante toda a gestação, porque a placenta não secreta progesterona.

O embrião deve estar presente no útero de 12 a 13 dias após o acasalamento, para que o CL se mantenha, visto que a partir desse período útero o inicia as primeiras ações que levarão a luteólise.

3.13 – Exame Ginecológico em Fêmeas Bovinas

A avaliação ginecológica era realizada com bastante ênfase em animais com dificuldade de concepção gestacional e também no pós-parto objetivando acompanhar a involução uterina e possíveis problemas decorrentes de partos distócicos, além de acompanhar o estágio do ciclo estral das fêmeas, avaliando a necessidade de interferência com algum protocolo ou procedimento.

Segundo GRUNERT (1993), o intuito de realizar o exame ginecológico, consiste em verificar o estágio do ciclo estral, verificar a causa da infertilidade do rebanho, dar assistência obstétrica quando necessário e diagnosticar distúrbios puerperais.

Para um exame ginecológico apropriado é necessário que se faça um levantamento histórico, com dados que incluam: idade; data; evolução e resultados de gestação prévia; tempo de eliminação da placenta no pós-parto; evolução do puerpério; comportamento e duração do ciclo estral, incluindo a intensidade e duração do estro; acasalamento prévio ou inseminação; tratamentos que tenham sido utilizados anteriormente, como para retenção de placenta, infecção uterina, drogas utilizadas e dosagem, programas nutricionais utilizados no período pré e pós-parto; assim como estágio de lactação e produção de leite (MARQUES, 2006).

Os animais que não apresentavam problemas durante o parto e pós-parto eram liberados para inseminação artificial depois de 45 dias da data de parição, desde que apresentassem involução uterina completa e a atividade cíclica ovariana estivesse normal. Para as vacas liberadas que tinham presença de corpo lúteo era indicado a administração de Prostaglandina, para promover a lise do corpo lúteo, reduzindo assim o período de espera voluntária para retorno do cio, nessa situação o proprietário era orientado para manter o animal em observação durante 3 a 6 dias para verificar a ocorrência de cio e realizar a inseminação artificial (IA). Se for diagnosticado a presença de corpo lúteo cavitário se faz necessário o aguardo de 7 dias para em seguida administrar a prostaglandina, visto que sua formação esta incompleta nesse período.

Durante o acompanhamento nas propriedades eram feitas as avaliações e classificações individuais dos animais, seguindo o procedimento: “UIN” – vacas com Involução Uterina Normal onde não era realizado nenhum tratamento, apenas se aguardava a liberação para serviço ou se já estivesse com mais de 45 dias de parida já liberava a fêmea; “CLnOD” - indicava a presença de um Corpo Lúteo no Ovário Direito e era feita a aplicação de prostaglandina para agilizar o retorno ao cio; “GI” – Catarro Genital de Grau 1, que se caracteriza pela presença de estrias de pús no muco uterino da fêmea, o tratamento recomendado era a infusão uterina; “GII” Catarro Genital de Grau 2, presença de secreção mucopurulenta intensa no muco uterino, nesse caso o tratamento era realizado com prostaglandina e em alguns casos ciprionato de estradiol em associação; “GIII” – Catarro Genital de Grau 3, era visualizada a presença de secreção purulenta com o útero espesso e firme, o tratamento recomendado era prostaglandina e ciprionato de estradiol; GIV- Catarro Genital de Grau 4, também chamado de piometra é caracterizado pela grande quantidade de conteúdo purulento no útero da fêmea, seu tratamento consiste no uso de prostaglandina e ciprionato de estradiol, também se recomenda a massagem uterina através da palpação retal durante 5 dias para ajudar na eliminação de conteúdo; “Metrite”- animal com conteúdo, coloração avermelhada-marrom (sanguinolenta) ou escura, consistência rala e aquosa, forte odor fétido e o útero geralmente com aumento de volume, o tratamento realizado se baseava no uso de prostaglandina, ciprionato de estradiol e antibiótico sistêmico; “Cisto” – trata-se de um folículo que não ovulou, deixando a vaca em anestro ou ninfomaníaca, o tratamento utilizado era a aplicação de GnRH ou protocolo de IATF.

3.13.1 – Catarro Genital de Grau I e Grau II

No catarro genital de 1º grau (CGI), no exame vaginoscópico se observa frequentemente que há prolapso de primeiro anel cervical, hipersecreção mucosa de aspecto turvo e hiperemia da porção vaginal do cérvix. O prognóstico para essa enfermidade é bom, alguns casos há cura espontânea com o cio normal (70% de cura). O tratamento pode ser realizado com infusão intra-uterina com preparados desinfetantes, irritantes e com antibióticos, recomenda-se fazer massagem uterina via retal (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

No catarro genital de 2º grau (CGII), em grande número de casos, há vaginite e vestibulite, na inspeção se observa a presença de secreção muco-purulenta. A vaca pode ciclar normalmente mas retorna ao cio após inseminações, a repetição de cio, no entanto, ocorre em intervalo de tempo maior que 21 dias, isso porque ocorreu a fecundação, mas não ocorreu a implantação por comprometimento do endométrio, ocorre fibrose do endométrio. A secreção cervical aumenta, podendo haver flocos de pús e hiperemia. Prognóstico: Reservado, 35-50% de cura com os tratamentos de rotina. A atividade cíclica dos animais é normal, o grande problema é a alta taxa de repetição de cio. Tratamento: Utilizar aplicação de prostaglandinas 11 dias após o cio, com isso ela faz com que haja migração de macrófagos para o útero, diminui o intervalo entre os cios (ANDREWS, 2008).

3.13.2 – Catarro Genital Grau III e Grau IV

No catarro genital de 3º grau (CGIII) os achados são semelhantes ao CG 2, mas neste caso a secreção vaginal é purulenta. O prognóstico é reservado, geralmente ocorre aciclicidade por presença de corpo lúteo pseudogravídico. O útero não produz prostaglandina porque o endométrio está lesado, com isso não ocorre luteólise. No tratamento se utiliza $\text{PGF}_{2\alpha}$ para eliminar o corpo lúteo, assim o animal entrará em cio e eliminará o conteúdo purulento. A cada estro devem ser feitas infusões. O tratamento deve ser repetido a cada 11 dias ($\text{PGF}_{2\alpha}$ + infusão), até que o muco perca a característica patológica (GARCIA, 2006).

O catarro genital de 4º grau (CGIV) é caracterizado pela ocorrência de piometra. Neste caso, a secreção é fracamente purulenta. O útero pode estar distendido bilateralmente e pode haver dúvidas, com a gestação. O corpo lúteo pode estar presente no ovário e se tornar persistente, não ocorrendo sua involução. Se a cérvix estiver fechada o diagnóstico se torna mais difícil. Em se tratando de catarros genitais de 3º e 4º graus, o prognóstico é de reservado a mal para a função reprodutiva. Quando a piometra é fechada pela palpação retal se constata o aumento de volume simétrico do útero com conteúdo líquido, já na piometra aberta as características são semelhantes ao CGIII porém com quantidades exacerbadas de secreção (GUIDO, 2005).

3.13.3 - Metrite

As infecções uterinas pós-parto geralmente ocorrem devido a problemas causados pela retenção de placenta e distocia, a metrite se caracteriza pela inflamação que envolve toda espessura do útero (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Segundo GUIDO (2005), é comum a ocorrência de metrite no puerpério pelos fatores predisponentes do parto, tais como distocia, ferimentos vaginais, retenção de placenta, prolapso uterino, manobras sem assepsia, presença de cio anovulatório no 14º dia pós-parto que mantém o colo aberto, todos esses fatores permitem a entrada de agentes no miométrio que ainda está distendido e lesado.

A metrite está geralmente associada à proliferação de diferentes bactérias que são habitantes normais do útero na altura do parto. *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides* spp. e *Arcanobacterium pyogenes* são exemplos de microrganismos frequentemente envolvidos nas metrites.

Os sinais clínicos mais comuns nas metrites incluem febre, presença de corrimento vaginal (Figura 8), odor fétido, inapetência, alterações nas paredes do útero e diminuição na produção láctea.

O tratamento utilizado para metrite pode ser local e/ou sistêmico, através da administração de antibióticos de largo espectro, antisséptico, lavagem ou sifonamento do conteúdo uterino, em alguns casos se fazem necessários fluidos para tratamento da desidratação e desequilíbrios eletrolíticos. Em geral o tratamento mais utilizado durante o estágio foi a administração de prostaglandina, cloridrato de ceftiofur e ciprionato de estradiol.

Segundo artigo publicado pela Zoetis (2013), a metrite tem um efeito direto na performance e rentabilidade dos animais, pois pode provocar perda de rendimento produtivo no arranque para a lactação, a ingestão de matéria seca não é suficiente para responder às exigências da lactação, uma vez que as vacas ficam deprimidas e alimentam-se de forma deficitária, as vacas com metrite diminuem a ingestão e isso agrava o problema do balanço energético negativo, mesmo com tratamento, os níveis de produção de leite dificilmente chegam aos valores produzidos por vacas saudáveis, aumento do número de dias em aberto devido taxas de concepção mais baixas, aumento dos custos de inseminação, devido a repetições, aumento da taxa de refugo, aumento dos custos de tratamento.

Figura 8 -Vaca com corrimento vaginal sanguinolento em decorrência da metrite.



3.13.4 – Cistos Ovarianos

Em bovinos, a ocorrência de cisto ovariano (Figura 9), é definida como presença de uma estrutura anovulatória de diâmetro maior do que 25 mm que persiste por no mínimo, 10 dias na ausência de um corpo lúteo (GARVERICK, 1997).

O cisto ovariano pode ser definido como um folículo que não ovulou. Quando ocorre a ovulação o folículo é rompido liberando o oócito para que ocorra a fertilização, nessa fase o folículo se encontra com um diâmetro entre 12 a 18 mm, já na ocorrência da não ovulação e consequente formação do cisto ovariano o tamanho é bastante variado visto que o crescimento continua, em geral os tamanhos são compreendidos em torno de 25 a 40 mm de diâmetro. Não é incomum encontrar dois ou mais cistos em um ovário de uma vez.

Segundo SANTOS e VASCONCELOS (2011), levantamentos de granjas leiteiras nos Estados Unidos relatam constantemente que cerca de 15% das vacas

apresentam um ou mais cistos ovarianos durante a lactação. Atualmente, as vacas císticas costumam ser identificadas quando é feito o diagnóstico de gestação, uma vez que não apresentam comportamento de estro por intervalos de tempo mais longos.

Logo após o final do período de estro, as vacas ovulam. O folículo ovulatório estava inibindo o crescimento dos demais folículos. No entanto, quando ele ovula, ele perde essa capacidade de inibição e um novo grupo de folículos começa a crescer. Essa é a denominada primeira "onda" folicular do ciclo. O maior deles se torna o folículo dominante e quando atinge 8 a 10 mm de diâmetro começa a secretar hormônios que inibem o crescimento dos outros folículos.

O hormônio mais importante quanto à formação do cisto é o LH (hormônio luteinizante). A secreção de LH pela hipófise é regulada por outro hormônio, o GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) que vem do hipotálamo.

Folículos saudáveis secretam estradiol, que tem muitas funções na vaca, como a indução do comportamento de estro, a produção de muco cervical, o relaxamento da cérvix, o aumento do tônus uterino associado ao estro, e a estimulação do hipotálamo para a liberação de uma quantidade grande de GnRH, que vai sinalizar para a hipófise que ela deve produzir um pico de LH e desencadear a ovulação. Nas vacas císticas, entretanto, o estradiol não consegue estimular a liberação de GnRH pelo hipotálamo e por isso não ocorre o pico de LH e consequentemente não ocorre a ovulação. (SANTOS e VASCONCELOS, 2011).

Segundo SANTOS, DÉMETRIO e VASCONCELOS (2009), no tratamento do cisto folicular, o objetivo é luteinizá-lo administrando gonadotrofina coriônica humana (hCG) ou com GnRH, que induz a onda pré-ovulatória de LH, tratamento este que parece ter sucesso em 80% dos casos. Também avaliam que o tratamento com GnRH mais dispositivo vaginal de progesterona (P4) durante sete dias, seguido de aplicação de PGF2 α ao final do protocolo, é o mais eficaz.

Uma abordagem bastante utilizada como tratamento para corrigir esse problema é induzir a ovulação do novo folículo com GnRH. O protocolo se faz da seguinte maneira: Dia 0 : GnRH (100 μ g); Dia 7: PGF2 α (25mg); Dia 9: GnRH (100 μ g) e IA (SANTOS e VASCONCELOS, 2011).

Durante o estágio os animais diagnosticados com ovários císticos, eram submetidos aos seguintes tratamentos: Dia 0: administração de 5 mL de um análogo sintético de GnRH (Gestran), via intra muscular e no Dia 7: administração de

150mcg de prostaglandina; ou a utilização de protocolo para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), não existia um único protocolo, era feito de acordo com a disponibilidade de compra que existia na região.

Figura 9 -Cisto Ovariano em Fêmea Bovina, a seta indica o cisto.



4- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período de estágio, avaliando as atividades desenvolvidas, considero que estas foram de grande valia para o aprendizado, demonstrando ao estudante a rotina prática realizada por um médico veterinário, conhecendo, analisando e resolvendo situações de vários níveis de complexidade, garantindo assim uma maior segurança decisional no momento em que nos depararmos com circunstâncias semelhantes.

5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes . 2010. Disponível em: http://www.abiec.com.br/download/stat_mercadomundial.pdf , Acesso em 10/10/2013

ALMEIDA, JACI e RESENDE, OSVALDO A.. **"Freemartinismo em bovinos: revisão de literatura Freemartins in cattle: a review."**

ALVIN, M.T.T., Artigo Técnico: **"Brasil líder mundial de Técnicas da Reprodução Bovina"** (2012). Disponível em: <http://www.primato.com.br/site/noticias/682.primato> acesso em 20/11/2013.

ANDREWS, A. H., BLOWEY, R.W, BOYD, H., EDDY, RG. **Medicina Bovina**. 2º Ed. São Paulo: Roca, 2008.

APOIO GENÉTICA – Artigo: **"Exame Andrológico em Touros"** Disponível em www.apoiogenetica.com.br/blog/artigos/exame-andrologico-em-touros/ - acesso 01/10/2013

BARCELOS, V.B. et al. **"Agentes infecciosos no sêmen de touros"**. Núcleo de Pesquisa, ensino e Extensão em pecuária. Universidade Federal de Pelotas. 2009. <http://www.ufpel.edu.br/nupeec/>

BARBOSA, ROGÉRIO TAVEIRA - Artigo Embrapa : **"Criação de Bovinos de Corte na Região Sudeste"** (2003). Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/BovinoCorte/BovinoCorteRegiaoSudeste/reproducao.htm> acesso em 01/10/2013

BOLETIM TÉCNICO CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária, Artigos: **"Reprodução Bovina, o Brasil desenvolve e domina a técnica"** 2012.

BARROS, C.M., Manual Técnico: **"Sincronização e IATF em Bovinos"**(2002).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **"Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e**

Tuberculose” – Brasília, Departamento de Defesa Animal, 2006. 132p (Manual Técnico).

CORTES, A.J.C.E, Artigo Técnico: **“Exame Andrológico aos Touros”**(2010)

COSTA, ELIZABETH OLIVEIRA. **"Importância da mastite na produção leiteira do país."** *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*1.1 (1998).

COSTA, I.B.; OLIVEIRA, I.R.C.; SILVA, I.B.F - **“FREEMARTINISMO EM BOVINO”**. RELATO DE CASO. FREEMARTINISMO IN CATTLE. CASE REPORT..(2012)

DIAS , STÉFANY – Revista Veterinária: **“Novo método de descorna cirúrgica”** Disponível em www.revistaveterinaria.com.br/2012/04/19/novo-metodo-de-descorna-cirurgica/ acesso em 23/09/13

FILHO, LEONARDO JARDELINO DA COSTA. **“Uso da Ultrassonografia na Reprodução de Vacas e Éguas”**. (Revisão de Literatura), UFCG 2010. 39p. Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Patos-PB

FRARE, JAIRO – **“Informativo Brahman Chaco”** - Edição 2013.

GABALDI, SANDRA H.; WOLF, ALEXANDRE. - CIÊNCIAS AGRÁRIAS REVISÃO DE LITERATURA: **“Termoregulação Testicular”** (2002). Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/100990139/termoregulacao-testicular> acesso em 26/11/13

GARCIA J.M.; COELHO . **“Estado da arte da fertilização *in vitro* em bovinos”**. Biotecnologia da reprodução em bovinos. I Simpósio internacional de reprodução animal aplicada. Jaboticabal-SP, 2007.

GARCIA, MAURÍCIO; DELLA LIBERA, ALICE M.M.P.; BARROS FILHO, IVAN. Guia On-Line de Clínica Buiátrica: **“Afecções do Sistema Genital Feminino”** (2006) . Disponível em <http://www.mgar.com.br/clinicabuiatrica/aspGenitalF.asp> acesso em 25/11/13

GARVERICK, H.A. **Ovarian follicular cysts in dairy cows**. J. Dairy Sci., v.80, p.995-1004, 1997.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **“Biotécnicas aplicadas à reprodução animal”**. São Paulo: Varela, v.1. 2002.

GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F.: **“Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal”**. 2ª Ed. São Paulo- SP, Roca, p. 261-293, 2008.

GONÇALVES PBD, BARRETA MH, SANDRI LR, FERREIRA R, ANTONIAZZI AQ.: **“Produção in vitro de embriões bovinos: O Estado da Arte”**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.31, p.212-217, 2007.

GRUNERT E, BIRGEL EH, VALE WG e BIRGEL JUNIOR EH (2005). Patologia e clínica da reprodução dos animais domésticos: **“ Ginecologia, Intersexualidade e Infertilidade de origem cromossômica nos animais mamíferos domésticos”**. Editora Varela, São Paulo, SP, 6, 255-287.

GRUNERT, E. **“Sistema Genital Feminino”**.In: DIRKSEN, G.; GRUNDER, D.; STOBER, M, ROSENBERGER. **“Exame Clínico dos bovinos”**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1993. p. 266-282.

GUIDO, MARIA CAROLINA – Artigos: **“PUERPÉRIO PATOLÓGICO”** (2005). Disponível em <http://eagaspar.com.br/mcguido/> acesso em 25/11/2013

HAFEZ, E. S. E. & HAFEZ, B. **“Reprodução Animal”**. 7º. Ed. Barueri: Manole, 2004. p.14-18;p.277.

INTERURAL: Revistas **“Cresce a procura pela fertilização in vitro de Bovinos”** (2013), disponível em: <http://www.interural.com/interna.php?referencia=revistas&materia=205> acesso em 22/11/2013.

MARQUES D.C. (2006). **“Criação de Bovinos”**. Belo Horizonte: UFMG. 7ª ed.

586p.

MELDAU, DÉBORA CARVALHO – Artigo Técnico: **“Tuberculose Bovina”**
Disponível em: www.infoescola.com/medicina-veterinaria/tuberculose-bovina/,
acesso em 17/09/12

OLIVEIRA, MARIA E.F. - Artigo Técnico: **“A importância do exame andrológico e avaliação da libido”** (2009). Disponível em <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/reproducao/a-importancia-do-exame-andrologico-e-avaliacao-da-libido>
53126/ acesso em 01/10/2013

PENITENTE FILHO, J.M.; OLIVEIRA, F.A. e TORRES, C.A.A.. **“PRODUÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS IN VIVO E IN VITRO.”** (2011).

PERASSOLI, ELAINE- Embrapa: **“Pesquisa permite diagnóstico de gestação precoce”** (2012). Disponível em <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/embrapa-pesquisa-permite-diagnostico-de-gestacao-precoce-79005n.aspx>
acesso em 21/11/13

PIMENTEL, CLÁUDIO ALVES - Revista Cultivar Bovinos : **“Manual para diagnóstico”** (1998) disponível em
www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=143 acesso em
21/11/13

PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA BRUCELOSE E DA TUBERCULOSE ANIMAL (PNCEBT) – **“Manual Técnico”** 2006.

PROGRAMA DE ZOONOSES REGIÃO SUL – **“Manual de Zoonoses”** Volume I, Segunda Edição, 2010.

SANTOS, R.M. DÉMETRIO, D.G.B., VASCONCELOS, J.L.M. – **“Cisto ovariano em vacas de leite: incidência, resposta à aplicação de GnRH e desempenho reprodutivo”** Artigo publicado no Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e

Zootecnia, v.61, p.527-532, (2009). Disponível em <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/reproducao/cisto-ovariano-em-vacas-de-leite-incidencia-resposta-aaplicacao-de-gnrh-e-desempenho-reprodutivo-55075n.aspx> acesso em 25/11/13

SANTOS,R.M, VASCONCELOS, J.L.M. – **“Cistos Ovarianos: etiologia, fisiologia e terapia”** (2011).

SENEDA, M.M.; SANTOS, G.M.G.; SILVA, K.C.F.; SPEGIORIN, M.R.; BLASCHI, W; PONTES, J.H.F. **“Situação Atual da Aspiração Folicular e da Fecundação In Vitro. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos”** (20º simpósio internacional de Reprodução Animal Aplicada). Londrina- PR, 2006.

SEOANE, MARIANA PROVENZA DOS REIS, GARCIA, DANIELA APARECIDA AYRES, e FROES TILDE RODRIGUES. **"A HISTÓRIA DA ULTRASSONOGRAFIA VETERINÁRIA EM PEQUENOS ANIMAIS."** *Archives of Veterinary Science*16.1 (2011).

SILVA, RENATA. Artigo Técnico: **“Ultrassonografia é utilizada para melhorar a eficiência reprodutiva de bovinos”** (2012).

VARAGO, F.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES,M.A. **Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.32, n.2, p.100-109, 2008.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. **“A produção de embriões bovinos no Brasil: uma nova realidade”.** Acta Scientiae Veterinariae, v.3, p. 915-924, 2007.

VIEIRA R.J. **Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades.** Ciência Animal, v. 22 n. 1. P. 55-65. Teresinha – PI junho, 2012.

VOLPI, RONEI; DIGIOVAN, MARIA SILVIA C. - Boletim Informativo FAEP : **“Aspectos econômicos da produção e dados estatísticos”** (2008).